

Pregledni članak
Review

NOVIJE SPOZNAJE O ETIOPATOGENEZI AMIOTROFIČNE LATERALNE SKLEROZE

NEW FACTS ON THE ETIOPATHOGENESIS OF AMYOTROPHIC LATERAL SCLEROSIS

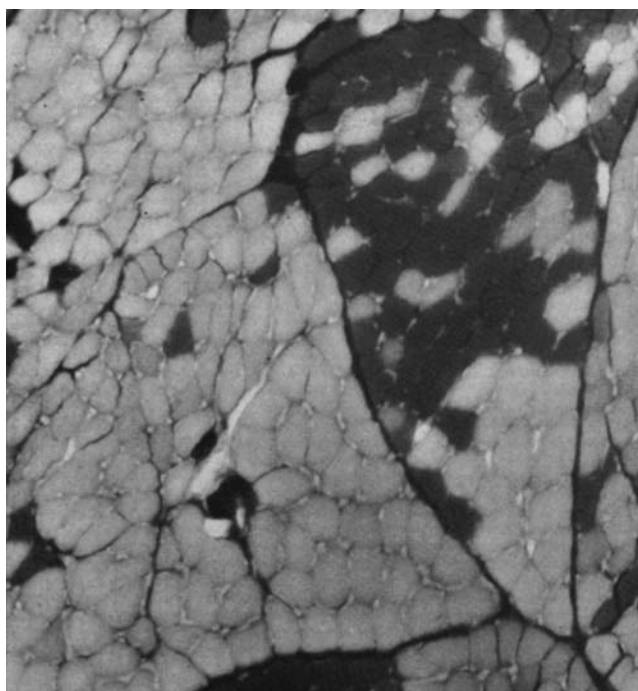
Paola Riosa

Opća bolnica Pula, Djelatnost za neurologiju

Summary: Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a progressive degenerative disease of motor neurons in the spinal cord, brain stem and the motoric cortex. The etiopathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis is still unknown. There are a large number of mechanisms on cell level that could cause a degeneration of motor neurons. In some 5-10% of cases the disease appears in families. Genetic research found that a mutation of the SOD1 gene located on the 21st chromosome accounts for approximately 20% of the ALS cases occurring in families. The research concentrate on the identification of new genetic mutations, so that numerous new gens were discovered in the last years connected to the degeneration of motor neurons. In approximately 90% of cases the disease occurs sporadically, i.e. there is no information on ALS cases within the family. The gene hypothesis does not explain such cases, and scientists believe that the risk of developing the disease includes a combination of various genetic and environmental risk factors. It must be stressed that a lower Cu/ZnSOD1 enzymatic activity in both the family related and the sporadic cases was noticed, showing cell damage through free radicals and points out the role of oxidative stress in both forms of the disease. Still, genetic factors are not the only reason for the occurrence of the disease.

The assumption that ALS is caused by an excitotoxic injury with glutamate has also been confirmed for both form of the disease. The explanation is that the selective degeneration of motor neurons is caused by a higher sensibility of motor neurons to glutamate and the excitotoxic process. A direct connection between exogene neurotoxins and the appearance of the disease has still not been proved; a possible explanation could be that these factors can increase the risk of disease development through a cumulative effect, making the cells more sensitive to degeneration. A smaller number of research indicates disorders in immunological function as the cause of the disease. However, there are still no exact proofs of the immunological hypothesis. The support of neurotrophic factors in the development of motor neurons is being intensively researched. The research itself and the identification of causal and risk factors for the occurrence of both forms of the disease are difficult due to the relative rare occurrence of the disease and the lack of DNA samples of the patients and their family members. There has still been a positive development in the research in the last years due to the creation of DNA banks with national databases for ALS.

Descriptors: motor neuron disease, etiopathogenesis



UVOD

ALS je najučestalija motorička sustavna bolest središnjeg živčanog sustava.

U skupinu sustavnih bolesti središnjeg živčanog sustava (SŽS) svrstava se niz bolesti kojima su zajednička patoanatomska i klinička svojstva: uzrokuju ih degenerativne promjene živčanog tkiva, što znači da se propadanje ganglijskih stanica, aksijalnih cilindara i mijelinskih ovojnica ne može histologijski objasniti upalnim ili vaskularnim zbivanjima u SŽS-u, manje i u perifernom živčanom sustavu, degenerativno su promijenjene određene anatomske jedinice i funkcionalno povezane jezgre i dugi putovi kao piramidni putovi, dugi putovi stražnjih funikula, spinocerebelarni putovi ili stanice prednjih rogova. Redovito susjedne strukture ostaju pošteđene ili tek neznatno izmijenjene. Klinički se simptomi pojavljuju u određenom, tipičnom životnom razdoblju, a bolest tada poprima kronični tijek. U mnogih, ali ne u svih bolesnika, može se dokazati nasljednost bolesti (11). Za motoričke sustavne bolesti SŽS-a koristi se zajednički naziv

sl. 1. Karakteristično grupiranje istovrsnih vlakana u neurogenom procesu. Modificirano prema Dubowitz, *Histochemistry of the Muscle*, 1968.

– bolest motornog neurona (BMN). Taj naziv označuje progresivnu degenerativnu bolest motornih neurona u kralježničnoj moždini, moždanom deblu i motoričkom korteksu, kao i degenerativnu bolest piramidnog puta.

U motoričkim sustavnim bolestima razlikujemo:

1. Nuklearne atrofije – proces zahvaća samo drugi (donji) motorni neuron. Ako bolest pogađa jezgre motornih moždanih živaca (slabost i atrofija muskulature dominira u mišićima inerviranim od motornih jezgara donjeg moždanog debla) tada se govori o progresivnoj bulbarnoj paralizi. Ako bolest pogađa motoričke stanice prednjih rogova kralježnične moždine govori se o progresivnoj spinalnoj mišićnoj atrofiji.
2. Primarna lateralna skleroza je rijedak oblik bolesti u kojem degenerativni proces ostaje ograničen na piramidne putove.
3. Amiotrofična lateralna skleroza je najčešća forma u kojoj su degenerativnim procesom zahvaćene obje strukture – riječ je o kombinaciji nuklearnih atrofija i degeneraciji piramidnih putova (11).

TERMINOLOGIJA

Naziv amiotrofična lateralna skleroza potječe još od Jean-Martin Charcota, francuskog neurologa 19. stoljeća, zaslužnog što je izdvojio ovu bolest od drugih mišićnih atrofija i uvidio da je ovdje s mišićnim atrofijama udružena i skleroza bočnih snopova leđne moždine. Stoga je bolest i poznata kao Charcotova bolest (*Maladie de Charcot*, *Charcots disease*), osobito u francuskom govornom području. U medicinskoj literaturi engleskog jezika ova se bolest najčešće zove bolest motornog neurona (BMN).

U SAD-u češće se koristi termin amiotrofična lateralna skleroza, a poznata je i kao Lou Gehrigova bolest, prema igraču bejzbola oboljelim od ove bolesti (11, 8).

EPIDEMIOLOGIJA

ALS je bolest s godišnjom incidencijom od 2 do 5 oboljelih na 100.000 stanovnika.

Muškarci obolijevaju nešto češće nego žene (1,5 : 1). Bolest se pojavljuje podjednako u cijelom svijetu s izuzetkom mnogo većeg broja oboljelih među stanovnicima poluotoka Kii u Japanu, Novoj Gvineji i posebice među stanovnicima otoka Guama u zapadnom dijelu Tihoga oceana (gotovo stotinu puta češće nego u drugim dijelovima svijeta). Ovdje je ALS često kombiniran s demencijom i akinetskim oblikom parkinsonizma.

Većina je bolesnika u dobi višoj od 50 godina u vrijeme početka pojave simptoma, može i ranije ali rijetko prije 30-e godine. Incidencija raste s porastom dobi bolesnika, a prosječna životna dob u kojoj se bolest pojavljuje je otprilike 65 godina starosti.

Prevladava sporadično pojavljivanje bolesti. U 5-10% slučajeva bolest je obiteljska. Oba tipa bolesti ne razlikuju se u simptomima i kliničkom tijeku (11).

PATOLOGIJA

Kod ALS-a riječ je o neurodegenerativnom procesu mo-

tornih neurona. Najznačajniji nalaz u ALS-u je gubitak motornih stanica prednjih rogova kralježnične moždine i motoričkih jezgri donjega moždanog stabla. U prednjim su rogovima kralježnične moždine atrofirale alfa motoričke stanice a gama su stanice zahvaćene tek kasnije i u manjoj mjeri. U moždanom deblu najveća oštećenja vide se u motoričkim jezgrama X, XI. i XII. moždanog živca, manje u V. i VII. Uvijek ostaju sačuvana tijela pokretača očnih bulbusa i motoričke jezgre u sakralnim segmentima leđne moždine koje inerviraju vezikorektalne sfinktere. Poznato jest, da ovi neuroni nemaju adrenergičke receptore i da su sličniji autonomnim neuronima. Vidljiva je asimetrija ovih lezija što se ogleda i u nesimetričnosti kliničkih simptoma i znakova (11).

Degenerativne promjene nađene u citoplazmi

Neurofilamenti predstavljaju strukturalne bjelancevine u neuronu i ima ih više vrsta (NF-L, NF-H, NF-M). Količinom neurofilamenata određena je debljina živčanog vlakna. Odgovorni su za aksoplazmatski transport, a promjene u tom transportu uzrokuju različite patološke promjene neurona. Fosforilirani neurofilamenti nakupljaju se u tijelu neurona i proksimalnom dijelu aksona gdje se i razvija sferoidna formacija koja se smatra početnom neurodegenerativnom promjenom i najvjerojatnije uzrokuje promjene u aksonalnom transportu. Oticanje proksimalnih dijelova aksona vjerojatno prethodi vidljivim promjenama u samim stanicama. Smatra se da je akumulacija neurofilamenata glavni znak neurodegeneracije. Takve promjene nalaze se kod obiteljskog oblika ALS-a (FALS), sporadičnog oblika ALS-a (SALS), spinalnih mišićnih atrofija (SMA) i hereditarnih senzomotornih neuropatija (HSMN).

Promjene neurofilamenata dovode do razvoja bolesti motoričkih neurona kod eksperimentalnog miša. Na isti način promjene neurofilamenata mogu djelovati i kod čovjeka. Karakteristične su citoplazmatske inkluzije (Bunina tjelešca).

Bunina tjelešca su specifična za ALS. To su eozinofilne inkluzije veličine 2-7 mikrometara, javljaju se pojedinačno ili u skupinama stvarajući lance.

Poznate si i bazofilne inkluzije veličine 4-16 mikrometara a bogate su s RNA i nalaze se kod bolesnika mlađe dobi. Poznati su i ubiquitinski proteini, imunoreaktivne inkluzije, koje se stvaraju preko lizosoma i također su specifični za ALS.

Fragmentacija Golgijevog aparata je rana patološka promjena i nalazi se kod oko 30% ALS bolesnika. Tjelešca poput Lewyjevih, su inkluzije koje se nalaze kod FALS kao i kod SALS, veličine su 3-5 mikrometara i okružene svijetlom aureolom. Sadrže mikrotubule i vakuole a mogu biti udružene s Buninim tjelešcima. Elektronskim mikroskopom nalaze se pahuljasti, nježni mikrotubuli i grubi endoplazmatski retikulum.

Opisane degenerativne promjene postupno dovode do gubitka stanica.

Mnoge su od preživjelih stanica smanjene, "skupljene", spongijotično promijenjene i ispunjene lipofuscinom. Propadanje stanica u moždanoj kori i kralježničnoj moždini nadomještava proliferacija glija stanica. Prednji korijeni

leđne moždine su neuobičajeno tanki, postoji neproporcionalni gubitak velikih mijeliniziranih vlakana u motoričkim živcima. Posljedično, mišićna vlakna pokazuju tipičnu denervacijsku atrofiju, različite starosti (sl. 1). Degeneracija i smanjenje prednjeg i bočnog piramidnog trakta je najjače izražena u cervikalnim i lumbalnim segmentima kralježnične moždine, ali se može pratiti i kroz moždano deblo do stražnjeg kraka kapsule interne i korone radijate.

Mikroskopski se vidi da su nestale Betzeove stanice 5. sloja precentralnog girusa motoričke kore ali i prefrontalna motorička kora pokazuje degenerativne promjene. To se može vidjeti kao atrofija frontalnog režnja na MR-u, a ponekad se i makroskopski vidi atrofija precentralnog girusa. Degeneracija piramidnih putova nije posljedica atrofije moždane kore, jednako tako ni propadanje stanica prednjih rogova nije uzrokovano transneuronalnom degeneracijom, već patološki proces može otpočeti na bilo kojoj razini motoričkog sustava i u pojedinim odsječcima pokazivati različite stupnjeve oštećenja. Piramidni put često degenerira duž svoga cijelog tijeka (11).

SIMPTOMATOLOGIJA I TIJEK BOLESTI

Potpuno izraženu kliničku sliku obilježuje kombinacija atrofičnih i spastičnih oduzetosti. Bolest je u pravilu nesimetrična. Nema jasnih pravila koja bi objašnjavala raspodjelu inicijalnih simptoma i njihovo daljnje pojačavanje. U otprilike 50% bolesnika bolest započinje atrofijama malih mišića šaka, zatim se javlja paraspastičnost nogu, a konačno je zahvaćeno i područje inervacije motoričkih moždanih živaca. Isto tako bolest često može započeti s atrofičnim ili spastičnim parezama potkoljenica i stopala, a zatim zahvaća ruke i bulbarne mišiće (ascendentni oblik). U 20% bolesnika inicijalni simptomi su bulbarne pareze koje se manifestiraju smetnjama govora i gutanja (descendentni oblik). Ako su prisutne centralne i periferne bulbarne smetnje često se pojavljuje patološki (prisilni) smijeh i plač. Osim toga može se naići na mnogo drugih razvojnih tipova bolesti.

Upadno je da često izostaju patološki refleksi. Fascikulacije se često zamjećuju, i u mišićima koji nisu paretični. Senzibilitetni poremećaji, koji nadmašuju povremene blaže parestezije, ili pak poremećaji kontrole mikcije ne pripadaju kliničkoj slici ALS-a. Rijetko se nalaze psihičke promjene poput depresije ili drugih blažih kognitivnih smetnji.

Disanje postaje otežano zbog oštećenja interkostalnih mišića i dijafragme što obično nastaje u odmaklom periodu bolesti. Slabost respiratorne muskulature čest je uzrok smrti.

Tijek je bolesti nezaustavljivo progresivan. Vrsta po kojoj se bolest razvija i dob u kojoj se pojavljuje ne pružaju pouzdane prognostičke elemente. Što se bolest ranije pojavi, može se očekivati duži vijek preživljavanja. Polovica bolesnika umire unutar dvije godine a 90% unutar šest godina od početka bolesti (krajnje su vrijednosti preživljavanja 6 mjeseci i 20 godina) (11).

DIJAGNOZA

Na ALS se sumnja uvijek kada se u bolesnika srednje dobi relativno brzo razvija spastična atrofična pareza a da je ne

prate znatni osjetni ispadi. EMG može upućivati na opće oštećenje perifernih motornih neurona i prije nego se ono klinički manifestira: otkrivaju se neurogeno uzrokovani potencijali mišićnih jedinica visokih amplituda tzv. divovski potencijali te proširene fibrilacije i fascikulacije koje su dokaz aktivne denervacije i reinervacije. U elektroneurografiji nalaze se normalne ili tek neznatno smanjene brzine živčane provodljivosti. Likvorski protein je normalan ili diskretno povišen. Serumska CK je blago ili umjereno povišena u slučajevima sa brzo progredirajućom atrofijom i slabošću, ali je jednako tako često i normalna.

MR može pokazati blagu atrofiju motoričkog korteksa. Biopsija mišića osim neurogene degeneracije pokazuje i kompenzacijsku hipertrofiju mišićnih vlakana. I biopsijom živca suralisa isključuje se sudjelovanje osjetnih vlakana i potvrđuje dijagnozu ALS-a (11).

ETIOPATOGENEZA AMIOTROFIČNE LATERALNE SKLEROZE

Na staničnoj razini postoji veliki broj mehanizama koji mogu uzrokovati degeneraciju motornih neurona. Neki od tih uključuju mutacije gena, oksidativni stres, toksičnost glutamata. Istražuje se i utjecaj neurotrofičnih faktora, moguć poremećaj imunoloških funkcija kao i način života i vanjski čimbenici rizika.

GENETIČKE HIPOTEZE

(oksidativni stres, slobodni radikali)

U oko 10% bolesnika s ALS-om (ovisno o istraživanjima u kojima postoci iznose od 5 do 15%) ista se pojavljuje obiteljski, a tada je odnos oboljelih muškaraca i žena 1 : 1 (11).

U genetičkim istraživanjima obiteljske ALS traži se gen koji bi mogao biti uzročnik bolesti ili gen koji bi mogao povećati rizik nastanka bolesti. Rađene su studije genetičkog porijekla ALS-a u određenih obitelji pogođenih ovom bolešću (12, 11).

Dosadašnja istraživanja su pokazala da je u obiteljskom obliku ALS-u (FALS) u 20% oboljelih registriran mutirani gen koji je smješten na 21. kromosomu (21q 22.1-22.2). Gen je nazvan SOD1 i ima pet eksona. Gen stvara enzim Cu/ZnSOD1 (Cu/Zn superoksid dismutazu). Taj enzim štiti neuron od slobodnih radikala koji su visoko reaktivni štetni stanični proizvodi. Oni potječu od normalnog fiziološkog metabolizma i energetske produkcije unutar stanice. U ovom slučaju mutiran gen ne stvara dovoljno enzima te se ne može korektno izvršiti protektivna uloga; umanjena enzimska aktivnost je oko 50% te se pretpostavlja da višak slobodnih radikala uslijed enzimskog deficita dozvoljava sporu destrukciju neurona (12). Također i kod manjka Zn i Cu iz strukture enzima dolazi do nagomilavanja slobodnih radikala koji pokazuju afinitet prema neurofilamentarnom sustavu i kojeg mijenjaju.

Postavlja se i obrnuta sumnja: da SOD1 mutacija ne djeluje na umanjene funkcije enzima već da izaziva toksični poremećaj povećavanjem sklonosti enzima da tvori proteinske agregate koji su štetni za živčane stanice. To navodi na zaključak da mitohondrijalna disfunkcija može biti uključena

na u patogenezu ALS-a (4, 6).

Biokemijske i morfološke mitohondrijske abnormalnosti pokazale su se u leđnoj moždini post mortem kod pacijenata s ALS-om. Nadalje, u transgeničnih miševa s mutiranim Cu/ZnSOD1 razvoju bolesti prethode mitohondrijalne abnormalnosti sugerirajući da je mitohondrijska disfunkcija uzročno uključena u patogenezu ALS-a. Usprkos takvoj činjenici još uvijek nije potpuno jasno kako SOD1 mutant uništava mitohondrije.

Skorašnji radovi pokazali su da je određeni dio SOD1 mutanta lokaliziran u mitohondrijima (i u transgeničnih miševa i u FALS pacijenata) u kojima stvara toksične proteinske agregate. Promjene koje se javljaju u mitohondrijima prvenstveno smanjuju stvaranje ATP-a. S druge strane, mitohondrijalna disfunkcija kod ALS-a izgleda da ne napada izričito samo motorne neurone budući da se nalazi i u drugim tkivima, posebice skeletnoj muskulaturi. Te spoznaje otvorile su nove prilike za istraživanja hipoteza koje se odnose na to da SOD1 mutant može izravno oštetiti mitohondrij.

Spoznaja da je mitohondrijalna disfunkcija zasigurno uključena u patogenezu ALS-a, bilo kao primarni uzrok ili kao doprinoseći čimbenik, može postati glavni cilj za terapijske intervencije (4, 6).

Do sada je nađeno preko 100 različitih mutacija SOD1 gena od kojih svi uzrokuju jedan od oblika ALS-a (1, 12). U SAD je najučestalija mutacija poznata kao A4V; događa se u preko 50% SOD1 slučajeva i tipično je povezana s vrlo kratkim preživljavanjem bolesnika (od 1 do 1,5 godine, naspram 3-5 godina za druge dominantne mutacije) (1).

U Skandinavaca postoji relativno benigna mutacija nazvana D90A koja je udružena sa sporijom progresijom bolesti (više od 10 godina) a nasljeđuje se recesivno (1).

Istraživanja u DNA sekvencijama gena opisane dvije mutacije nise rezultirale promjenama u aminokiselinskim sekvencijama te se može zaključiti da mutacije u kodirajućim regijama oko lokusa SOD1 nisu odgovorne za mnogo agresivniju (A4V) i mnogo benigniju (D90A) SOD1 mutaciju (1).

Od svih gena SOD1 mutacija je odgovorna za oko 20% obiteljskih ALS slučajeva.

Broj otkrivenih gena udruženih s degeneracijom motornih neurona znatno se povećao zadnjih nekoliko godina. Mnogi od tih mutiranih gena koji su povezani s tom bolešću kodiraju za proteine koji su direktno ili indirektno uključeni u aksonalni transport ili igraju ulogu u RNA metabolizmu (7, 9, 1).

Osim SOD1 otkriveni su i drugi geni koji su povezani s ALS-om.

Mutacija u ALS2 genu uzrokuje juvenilni oblik ALS-a, tzv. autosomalnu recesivnu ALS (ALS2) koja specifično pogađa neke obitelji arapskog porijekla (1990. godine u Tunisu je opisano 17 obitelji s početkom FALS-a već u dvanaestoj godini života). Tzv. alsin je protein kodiran dijelom ALS2 gena. Nađeno je da alterirani alsin korelira sa značajnom redukcijom podjedinice 2 AMPA glutamatnih receptora (GluR2) na sinaptičkoj staničnoj površini a koja je najzaslužnija za oblikovanje ionskog kanala i njegovu slabu propu-

snost za ione Ca. To izaziva povećan ulaz kalcija u stanicu što u tom slučaju uzrokuje brojne unutarstanične, ne samo metaboličke već i toksične učinke; u slijedu poremećaja dolazi do raspada stanica, povećanog otpuštanja glutamata i ponovnoga daljnjeg ekscitotoksičnog procesa. Opisano sugerira protektivnu ulogu alsina u održavanju preživljavanja motornih neurona (9).

Sljedeći gen za rijetki juvenilni oblik ALS-a, otkriven 2004. godine, nazvan je senataxin (SETX ili ALS4) (1, 9). Otkriveni su i geni nazvani Vesicle associated protein B (VAPB), NEFH, a najsvježije i gen nazvan ALS8 također pronađen u nekim obiteljskim slučajevima ALS-a (1, 9).

Nekoliko istraživačkih skupina u svojim studijama govori o specifičnim varijacijama u genu nazvanom NF-H gen u ljudi sa sporadičnim oblikom ALS-a. Taj gen kodira za komponente staničnog citoskeleta. Proteini neurofilamenta nađeni su akumulirani na početku motornih neurona i blokiraju neke od staničnih procesa (2, 3).

Neka istraživanja sugerirala su da varijacija u genu nazvanom VEGF može također doprinijeti razvoju MND-a, dok druge studije imaju o tome suprotne rezultate. Taj gen regulira prokrvljenost organizma ali njegova specifična uloga u motornim neuronima nije posve jasna. Studije o ulozi VEGF u MND-u su putokazi u animalnim modelima bolesti. U tim istraživanjima je VEGF gen bio terapijski administriran mutiranim SOD1 miševima a što je odgodilo početak i usporilo razvoj bolesti. Pokazalo se i da su razine VEGF u likvoru bolesnika oboljelih od ALS-a niže od uobičajenih što sugerira na sličan pristup u ljudi s MND-om (3).

Na osnovi istraživanja u Dublinskom sveučilištu pronađene su i varijacije u genu koji je povezan s VEGF-angio-geninu (ANG gen). Pronašli su da su specifične varijacije u ANG genu mnogo češće u ljudi s ALS-om nego u ostale populacije. Tek će daljnja istraživanja potvrditi da li je ANG gen rizični čimbenik koji doprinosi nastanku ALS-a (3, 2). Važno je naglasiti da premda varijacije NF-H, VEGF ili ANG gena mogu povećati rizik za razvoj bolesti, iste ipak ne uzrokuju ALS (2, 3).

Organizam ima obrambeni antioksidacijski sustav preko čistača slobodnih radikala (superoksid dismutaza, katalaza, glutation peroksidaza). Ako su oni oslabljeni, slobodni radikali oštećuju stanicu putem oksidacije i peroksidacije proteina, lipida i nukleinskih kiselina. Oksidativni stres sudjeluje i u ishemijskoj smrti stanice i kod neurodegenerativnih bolesti. Postavlja se pitanje zašto manje vrijedan enzim Cu/ZnSOD1 koji se nalazi u raznim stanicama oštećuje samo motoneurone? Objašnjava se time da oksidativni stres nije jedini razlog nastanka bolesti (1, 3, 9, 11).

Sporadični oblici ALS-a

U najvećem broju slučajeva (90%) bolest se javlja sporadično; ne postoje podaci o obiteljskoj opterećenosti.

Genetska hipoteza ne daje objašnjenje za takve slučajeve, a istraživači sugeriraju da rizik za razvitak bolesti uključuje kombinaciju različitih genetskih i vanjskih čimbenika rizika. Oni su se događali godinama ili desetljećima prije pojavljivanja same bolesti.

Mora se naglasiti kako je primijećena snižena Cu/Zn-SOD1 aktivnost i u sporadičnim slučajevima što ukazuje na postojanje oštećenja stanica slobodnim radikalima i naglašava ulogu oksidativnog stresa (11, 12).

Istraživači vjeruju da će otkrivanje genetskih uzroka u obiteljskim ALS slučajevima dovesti do boljeg razumijevanja nastanka mnogo učestalijih sporadičnih oblika ALS-a.

Kako se kliničke slike sporadičnih i obiteljskih oblika bolesti ne razlikuju vjeruje se da su mehanizmi nastanka bolesti također slični.

Stvorenih su laboratorijski modeli ALS-a i studije kemijskih procesa koje se događaju unutar motornih stanica.

Premda su mehanizmi oštećenja motornih neurona uzrokovani tim mutacijama uglavnom nepoznati, istraživačima su poznate normalne funkcije proteina koji su kodirani od gena ALS2, ALS4 i ALS8. Ti proteini su uključeni u biokemijske procese u stanicama i dovode do značajnih spoznaja o uzrocima degeneracije motornih neurona.

Nova tehnologija omogućuje da se kodira potpuni genetički kod u ljudi oboljelih od amiotrofične lateralne skleroze i da se uspoređi s genetskim kodom zdravih ljudi.

Buduća istraživanja se koncentriraju na identificiranje novih genetskih mutacija.

Zaključno se ipak može reći da genetski čimbenici nisu jedini razlog nastanka bolesti (9,11,12).

EKSCITOTOKSIČNE HIPOTEZE

(ekscitotoksičnost glutamata)

Glutamat je najzastupljeniji i glavni ekscitacijski neurotransmitor središnjeg živčanog sustava sisavaca.

Posebno je značajno što je glutamat neurotransmitor u piramidnim neuronima koji čine oko 70% svih stanica u kori velikog mozga. Glutamat se oslobađa kod depolarizacije živčanog završetka i uvjetovano prethodnim ulaskom iona Ca u presinaptičku okončinu. Preuzimanje glutamata iz izvanstaničnog prostora u stanice glijne i neurone ovisno je o aktivnom transportu i specifičnom unositelju. Koncentracija glutamata u citoplazmi neurona je 10.000 puta veća nego u izvanstaničnom prostoru i iznosi oko 10 mM. Kad glutamat difundira u sinaptičku pukotinu aktivira dvije vrste receptora: ionotropne i metabotropne.

Poznate su tri vrste ionotropnih receptora za ekscitacijske aminokiseline, razlikuju se po brzini aktivacije i propusnosti za pojedine ione, građeni su od više subjedinica, a nazivaju se prema selektivnim agonistima koji se za njih vežu: AMPA, kainatni i NMDA receptori (8).

AMPA i kainatni receptori su kationski kanali čije otvaranje uzrokuje depolarizaciju a značajni su za brzu ionotropnu, ekscitacijsku sinaptičku transmisiju u mozgu.

Funkcijski podražaj NMDA receptora uzrokuje ulazak iona Na i što je osobito važno ulazak iona Ca u stanicu. Podražaj tih receptora ima istodobno brz ionotropni ekscitacijski učinak ali i brojne metabotropne učinke posredovane ulaskom iona Ca u stanicu. Metabolički najvažnija zadaća iona Ca u stanicama je regulacija aktivnosti brojnih enzima; enzimi aktivirani kalcijem uključuju lipaze kao što je kal-

pain, fosfolipaza C, fosfolipaza A2, proteaze, nukleaze. Ovi enzimi sudjeluju u kataboličkim procesima ili u procesima stvaranja drugog glasnika.

Posebnu pozornost privlače nalazi da Ca može aktivirati NO sintazu; veće količine tog vrlo otrovnog plina djeluju toksično na stanicu (8).

Ekscitotoksično djelovanje ekscitacijskih aminokiselina

O ekscitotoksičnosti počelo se govoriti još prije 40-ak godina kada je na eksperimentalnim miševima uočeno da injekcija glutamata uništava stanice retine i dovodi do neurodegeneracije kod nezrelih laboratorijskih životinja.

Aminokiseline koje djeluju kao agonisti ionotropnih receptora jesu ekscitotoksične (podražajno – otrovne), tj. stupanj njima uzrokovane ekscitacije može djelovati toksično. Stoga su ta oštećenja i smrt stanica posredovane prekomjernim podražajem ekscitacijskih ionotropnih receptora.

Za razvoj se neurotoksičnosti najvažnijim smatra utok iona Ca u stanicu koji posreduje brojne unutarstanične metaboličke učinke; ako je ulazak iona Ca prevelik može doći do toksičnih učinaka.

Pri tome se smatra da je patofiziološki mehanizam procesa ekscitotoksičnosti slijedeći: prekomjerni podražaj NMDA receptora dovodi do povećanog utoka iona Ca u stanicu što uzrokuje poremećaje cijele metaboličke ravnoteže unutar stanice; pretjeranu aktivaciju o kalciju ovisnih enzima proteaza, lipaza, nukleaza, sintaze NO; oštećenje mitohondrija i što je posebno važno dodatnu povratnu aktivaciju NMDA receptora.

Osim ulaska iona Ca kroz NMDA receptore, stimulacija AMPA i kainatnih receptora uzrokuje ulazak iona Ca kroz voltažne kanale i oslobađanje iona Ca iz endoplazmatskog retikuluma.

Zbog sve jače aktivacije ekscitacijskih ionotropnih receptora nastaje i sve jača depolarizacija te se još više povećava ulazak iona (kationa i klorida) te postupno i vode. Riječ je o slijedu poremećaja koji konačno uzrokuju stvaranje slobodnih radikala (NO, peroksinitrat, hidroksilni radikali, anion superoksida), oksidativni stres (peroksidacija lipida), disfunkciju mitohondrija i smanjenje produkcije energije te osmolarno oštećenje, bubrenje i konačno raspad stanica.

Raspadnuta stanica otpušta svoje sastavne dijelove uključujući i glutamat, a on odlazi susjednim neuronima gdje dalje opet dovodi do ekscitotoksičnog procesa (8, 11).

Studije kultura stanica pokazuju da ekscitotoksičnost pobuđuje u stanici oba procesa, i nekrozu i apoptozu – što ovisi o koncentraciji glutamata i dužini njegove stimulacije NMDA receptora.

Postoje i drugi trigeri ekscitotoksičnosti osim opisanog pojačanog oslobađanja glutamata npr. promjena receptora (broja, gustoće, distribucije i afiniteta prema glutamatu).

Kod ALS-a mnoga istraživanja upućuju na povećanu prisutnost glutamata u sinaptičkom prostoru. Kako je povišenje ekstracelularno smatra se da je pokretač ekscitotoksičnosti defekt glutamatskih transportera (posebno je značajan transporter nazvan EAAT2 koji se nalazi na astrocitima) uz posljedično smanjenu mogućnost uklanjanja glutamata iz

sinaptičke pukotine.

Kod ALS bolesnika nađena je i povišena koncentracija glutamata i aspartata u krvi i likvoru a otkriveno je i da cerebrospinalni likvor ovih bolesnika uzrokuje smrt neurona u staničnoj kulturi.

I kod ove hipoteze postavlja se pitanje zbog čega stradaju samo motoneuroni? Pokušava se objasniti da je selektivna degeneracija motoneurona uzrokovana većom osjetljivošću motoneurona na glutamat i na proces ekscitotoksičnosti. Postoji i pretpostavka veze između ekscitotoksičnog djelovanja glutamata i oksidativnog stresa (8, 11).

In vitro, neuroni s mutiranim Cu/Zn SOD1 su znatno više vulnerabilni na ekscitotoksičnost glutamata nego neuroni s nepromijenjenim enzimom (1, 7, 12). Pretpostavka da ALS uzrokuje ekscitotoksična povreda s glutatom potvrđena je za oba oblika ove bolesti, i sporadični i obiteljski (1,7,12).

EGZOGENI NEUROTOKSINI

Godinama su rađena mnoga istraživanja načina života i utjecaja vanjskih faktora koji bi mogli djelovati kao "okidači" za ALS. Epidemiološke studije uočavale su moguću vezu s prijašnjim izlaganjima mehaničkoj ili elektrotraumi, ionizirajućem zračenju, virusnoj infekciji, raznim kemikalijama, teškim metalima (olovo, cink, živa, aluminij) i elementima u tragovima.

Jedna nedavna studija o utjecaju djeteta na rizik razvika bolesti pronašla je da su ljudi s ALS-om uzimali manje vitamina E i nezasićenih masnoća u godini koja je prethodila razvoju simptoma. Nikada nije dokazana izravna uzročna povezanost; jedno moguće objašnjenje je da ti faktori mogu povećati rizik razvoja ALS-a kumulativnim učinkom i slabljenjem živčanih stanica čineći ih osjetljivijima na degeneraciju (11).

Uzročni faktori vezani uz tradicionalnu prehranu

Na otoku Guam, Novoj Gvineji i nekim drugim pacifičkim zemljama ALS je učestalija za 100-150 puta u odnosu na druge dijelove svijeta. Utvrđeno je da se u tim uglavnom tihooceanskim područjima ljudi za prehranu često služe priravcima cikasa palme, od debla najpoznatije vrste *Cycas circinalis*, koje sadrži puno škroba, pravi se brašno a ponekad se jedu sjemenke i lišće. Otkriveno je da cikasa brašno sadrži aminokiselinu beta-N-metilaminoalanin (BMAA) za koju je u kulturi neurona utvrđena neurotoksičnost, perifernih i centralnih motoneurona (8).

Poznato je i da jedan drugi oblik bolesti motoričkih neurona, primarnu lateralnu sklerozu, u nekim dijelovima svijeta (Indija, Bangladeš) izaziva prehrana grahoricom *Lathyrus sativus* – tzv. latirizam. Grahorica sadrži ekscitotoksičnu aminokiselinu beta-N-oksalilaminoalanin (BOAA) koja podražuje glutamatne receptore (8).

IMUNOLOŠKA HIPOTEZA

Manji broj istraživanja upućuje na poremećaje imunoloških funkcija.

Prisutnost imunoinflamatornog zbivanja u SŽS-u može objasniti pojavu oštećenja motoneurona. Mikroglia čini oko

10% moždanog parenhima i stvara uvjete za imunoreakcije; u slučaju upalnih promjena dolazi do proliferacije mikroglije, ali također reagira i na mehaničke i na toksične povrede perifernih živaca.

Različite povrede mogu dovesti i do aktivacije mikroglije i u prednjim rogovima leđne moždine. Patohistološki kod ALS bolesnika nalaze se infiltrati imunoglobulina IgG, proliferacija astroglije i T stanica a nalaze se i komponente komplementa. Moglo bi se raditi i o postojanju antitijela što znači specifična antitijela protiv komponenata vlastitog organizma, u ovom slučaju neurona (do sada su u ALS bolesnika dokazana antigangliozidna GM1 i GD16 protutijela) (13).

Postavljena je mogućnost da autoimunitet igra ulogu u etiologiji ALS-a, jer bolesnici s ALS-om često imaju autoimune poremećaje (paraproteinemije, monoklonalni imunoglobulini). Međutim, nema nikakvih egzaktnijih potvrda autoimuniteta.

I imunosupresivna je terapija bez efekta iako je poznato da uobičajena imunosupresivna terapija ima vrlo ograničen učinak na SŽS.

NEUROTROFIČNI FAKTORI

Faktori rasta živčanih stanica, nerve growth factor (NGF), važni su u reguliranju života svih subpopulacija živčanih stanica. Neurotrofički faktori odgovorni za motoneurone su: neurotrophins, ciliary neurotrophic factor, hepatocyte growth factor, insulin-like growth factor, glial-derived growth factor, itd. (14).

Razvoj motoneurona ovisi i o potpori neurotrofičnih faktora. Primjerice manjak glial growth faktora dovodi do deficita Schwannovih stanica i redukcije motoneurona.

Antiapoptotički signal neurotrofičnih faktora interferira u raznim patomehanizmima koji mogu biti odgovorni za smrt neurona.

Ako je djelovanje neurotrofičnih faktora manjkavo dolazi do smrti motoneurona.

LIJEČENJE ALS-a

Samim tim što etiopatogeneza ove bolesti još nije razjašnjena specifično liječenje nije moguće. Sprovode se samo simptomatski i suportivni postupci.

U ranim stadijima preporučljiva je fizikalna terapija u svrhu održavanja pokretljivosti: miotonolitičkim lijekovima smanjuje se spastičnost; u bulbnim simptomima radi smanjenja salivacije daju se antikolinergijski lijekovi; pokušava se i malim dozama mestinona u bolesnika s mijastenijomskom komponentom. Radi smetnji disanja daljnja je mogućnost traheotomija a kod otežanog gutanja ishrana na nazogastričnu sondu, eventualno gastrostomija (11). Zadnjih je godina značajno primjena asistiranoga disanja metodom neinvazivne ventilacije (NIV).

Blokator glutamata Riluzol izgleda da usporava progresiju bolesti i poboljšava preživljavanje u bolesnika s bulbnim početkom bolesti, ali u najboljem slučaju produžava život za najviše tri mjeseca (10).

Prihvaćena je kombinirana terapija koja bi trebala biti djelotvorna na više različitih zbivanja u stanici. Smrt sta-

nice kod ALS-a nije jasna ali se može pretpostaviti da postoji neki za sada nepoznati signal koji pokreće i aktivaciju glutamata, zatim aktivaciju glutamatnih receptora osobito NMDA, stvaranje slobodnih radikala, povećanje koncentracije kalcija u stanici. Sve to pokreće razne enzimatske procese koji završavaju apoptozom i nekrozom stanice.

Iz toga slijedi da je neuroprotektivni efekt rezultat djelovanja s više strana: antioksidativna sredstva (čistači slobodnih radikala), blokatori kalcijevih kanala, neurotrofički faktori, moguće i genska terapija (10).

Izvori / References

1. Broom WJ, Russ C, Sapp PC et al. *Variants in candidate ALS modifier genes linked to Cu/Zn superoxide dismutase do not explain divergent survival phenotypes*. *Neurosci Lett*. 2006 Jan 9; 392(1-2):52-7.
2. Cereda C, Gabanti E, Corato M et al. *Increased incidence of FMO1 gene single nucleotide polymorphisms in sporadic amyotrophic lateral sclerosis*. *Amyotroph Lateral scler*. 2006 Dec; 7(4): 227-34.
3. Cronin S, Greenway MJ, Ennis S et al. *Elevated serum angiogenin levels in ALS*. *Neurology*, 2006 Nov 28; 67(10): 1833-6.
4. Dupuis L, Gonzalez de Aguilar JL, Oudart H et al. *Mitochondria in amyotrophic lateral sclerosis: a trigger and a target*. *Neurodegener Dis*. 2004; 1(6): 245-54.
5. Gruzman A, Wood WL, Alpert E et al. *Common molecular signature in SOD1 for both sporadic and familial amyotrophic lateral sclerosis*. *Neuropathology* 2007 Jul 16.
6. Hervias I, Beal MF, Manfredi G. *Mitochondrial dysfunction and amyotrophic lateral sclerosis*. *Muscle Nerve*. 2006 May; 33(5): 598-608.
7. Hosler BA, Nicholson GA, Sapp PC et al. *Three novel mutations and two variants in the gene for Cu/Zn superoxide dismutase in familial ALS*. *Neuromuscular disorders* 2007 Jan; 6(5):361-6.
8. Lacković Zdravko. *Ekscitacijske aminokiseline*. *Neurotransmitori u zdravlju i bolesti*; Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 1994; 185-214.
9. Lai C, Xie C, McCormack SG et al. *Amyotrophic lateral sclerosis 2-deficiency leads to neuronal degeneration in amyotrophic lateral sclerosis through altered AMPA receptor trafficking*. *J Neurosci*, 2006 Nov 8; 26(45):11798-806.
10. Mitsumoto H. *A strategy to develop effective ALS therapy*. *Brain Nerve*, 2007 Apr; 59(4):383-91.
11. Poeck Klaus. *Amiotrofična lateralna skleroza*. *Neurologija*; Školska knjiga Zagreb, 2000; 457-459.
12. Van Den Bosch L, Timmerman V. *Genetics of motor neuron disease*. *Curr Neurol Neurosci Rep*. 2006 Sep; 6(5): 423-31.
13. Niebroj-Dobosz I, Janik P, Kwiecinski H. *Serum IgM anti-GM1 ganglioside antibodies in lower motor neuron syndromes*. *Eur J Neurol*. 2004 Jan; 11(1):13-6.
14. Schulte-Herbruggen O, Braun A, Rochlitz S, Jockers-Scherubl MC, Hellweg R. *Neurotrophic factors – a tool for therapeutic strategies in neurological, neuropsychiatric and neuroimmunological diseases?* *Curr Med Chem*. 2007; 14(22):2318-29.